

### 30 例耐药结核性脑膜炎脑脊液细胞学动态分析

张继萍<sup>1</sup>, 任丽娟<sup>2</sup>, 赵亚娟<sup>1</sup>, 李永利<sup>3</sup>, 叶迎宾<sup>1</sup>, 黄秀香<sup>1</sup>, 郑立恒<sup>4</sup>

( 1. 邯郸市传染病医院 肺四科, 河北 邯郸 056002; 2. 邯郸市第一医院 呼吸一科, 河北 邯郸 056000; 3. 曲周县中医院 内科, 河北 邯郸 057250; 4. 北京胸科医院 分子生物学研究室, 北京 101149)

**【摘要】**目的: 探讨脑脊液细胞学动态特点在耐药结核性脑膜炎( 简称结脑) 临床诊疗中的价值。方法: 运用玻片离心沉淀法收集细胞, 瑞吉染色, 油镜下进行细胞分类, 对 30 例耐药结脑患者的脑脊液细胞学分类特点进行动态观察与分析, 以评估治疗效果并指导治疗。结果: 耐药结脑患者脑脊液白细胞总数均有升高。早期以嗜中性粒细胞为主, 随后大多数单耐药、多耐药结脑患者脑脊液细胞学呈混合细胞学反应, 随病情好转, 单核细胞、激活单核细胞增多, 迅速变成以淋巴细胞为主, 但是耐药、泛耐药的结脑患者的脑脊液多数长期为混合细胞学反应, 至患者死亡仍未见明显好转。结论: 脑脊液细胞学检查操作简便, 其结果能直接反映脑脊液的免疫反应状态, 有一定特异性, 对耐药结脑的临床诊断、鉴别诊断和指导治疗有重要意义。

**【关键词】**耐药性; 结核性脑膜炎; 脑脊液细胞学

**【中图分类号】**R 529. 3 **【文献标识码】**A

**【DOI】**10. 3969/j. issn. 1002-0217. 2015. 06. 015

### Cytological features of cerebrospinal fluid and significance in diagnosis of drug-resistant tuberculous meningitis

ZHANG Jiping, REN Lijuan, ZHAO Yajuan, LI Yongli, YE Yingbin, HUANG Xiuxiang, ZHENG Liheng

The Fourth Department of Handan Infectious Disease Hospital, Handan 056002, China

**【Abstract】Objective:** To assess the clinical values by determining the dynamics of cytological changes of the cerebrospinal fluid( CSF) in diagnosis of the drug-resistant tuberculous meningitis ( TBM) . **Methods:** By using the cerebrospinal fluid sediment chamber method, the cells were collected from the CSF, and subjected to Wright-Giemsa staining and classification with oil immersion lens. Then the curative effects were assessed in 30 cases of drug-resistant TBM through dynamic observation and analysis on the cytological pictures of the CSF. **Results:** Total leucocyte count was increased in CSF of TBM patients, and neutrophilic granulocytes were prominent in the early stage of disease, followed by mixed cell reaction in cases of single or multi drug-resistance. With improvement of the disease, monocytes and the activated monocytes were increased, and correspondingly dominated by lymphocytes. However, mixed cell reaction persisted in the CSF from TBM patients with multi-drug or pan-drug resistance, and this condition failed to reverse till the death of patients. **Conclusion:** The cytological analysis of CSF can specifically reflect the state of immune response in patients with drug-resistant TBM, and may have clinical implications in differentiation and planning the therapeutic strategy for this entity.

**【Key words】** drug tolerance; tuberculosis meningitis; cerebrospinal fluid cytology

结核性脑膜炎( tuberculous meningitis, TBM, 结脑) 是最严重的肺外结核病, 早期诊断率仅为 10% , 病死率高<sup>[1-3]</sup>。随着结核病在世界范围内疫情加重, 耐药、耐多药菌株的增多, 结脑的发病率及病死率亦有增高趋势, 耐药结脑的诊断及治疗引起医学界的高度重视。脑脊液细胞学检查对于结脑的早期诊断及病情评估有重要价值, 并为指导激素减量提供了

科学依据。本实验研究耐药结脑患者的脑脊液标本, 旨在分析脑脊液细胞的动态变化特点, 并讨论其对诊断、指导治疗和预后的意义。

#### 1 资料与方法

1.1 临床资料 208 份脑脊液标本来自邯郸市传染病医院 2009 年 7 月 ~ 2013 年 6 月收治的 30 例结

基金项目: 邯郸市科技资助项目( 1223108153)

收稿日期: 2015-04-26

作者简介: 张继萍( 1977-), 女, 主治医师, 硕士( 电话) 13930079450( 电子信箱) yyb324@ 163. com;

郑立恒, 男, 主管检验师, 博士( 电子信箱) zhengliheng2006@ 163. com, 通讯作者。

脑患者。所有脑脊液均在本院或外院获得改良罗氏培养法阳性结果,并经药敏试验确诊为耐药结脑。单耐药、多耐药、耐多药、广泛耐药患者分别为 15、11、2、2 例,其中单耐药病例中耐利福平 5 例、耐异烟肼 6 例、耐吡嗪酰胺 2 例、耐乙胺丁醇 2 例;多耐药病例中耐利福平和吡嗪酰胺 3 例、耐利福平和乙胺丁醇 3 例、耐异烟肼和吡嗪酰胺 4 例、耐异烟肼和乙胺丁醇 1 例;耐多药病例 2 例均为同时耐利福平和异烟肼;广泛耐药病例中耐利福平、异烟肼、莫西沙星 1 例,耐利福平、异烟肼、氧氟沙星、阿米卡星 1 例。每例患者均送脑脊液标本进行细胞学检查,最早送检时间为发病后 1 d,最迟为发病后 60 d。

1.2 检测方法 根据脑脊液常规白细胞数的多少取脑脊液 0.2 ~ 0.5 mL,采用 Cytospin-4 型玻片离心沉淀仪(450 r/min 2 ~ 5 min),将收集有细胞的玻片干燥后进行瑞吉染色 8 min,干燥后在油镜下进行白细胞分类计数。

1.3 实验分组 将 30 例结脑患者按单耐药、多耐药、耐多药、泛耐药的情况分成四组,比较各组间细胞学动态变化情况。

2 结果

2.1 所有标本中送检时间从发病后 1 ~ 60 d 不等,四组中各患者例数和标本送检时间见表 1。

表 1 患者例数及标本送检时间

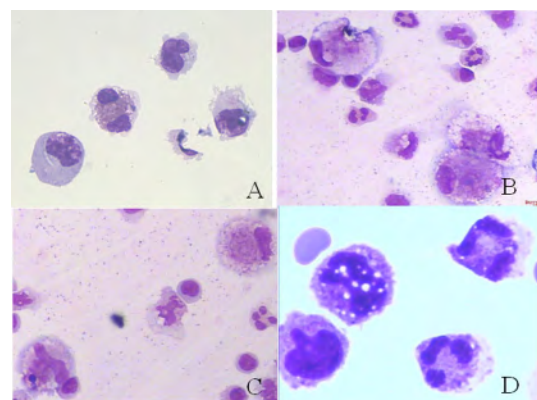
分组	时间			
	1 周	2 周	3 周	4 周及以上
单耐药	2	8	2	3
多耐药	2	5	3	1
耐多药				2
泛耐药				2

2.2 白细胞计数情况 208 份脑脊液标本在发病早期和增生期白细胞总数均有不同程度升高,治疗有效的患者进入恢复期后白细胞数明显下降至恢复正常,但耐药情况严重的患者进入慢性期,白细胞总数居高不下,嗜中性粒细胞始终占一定比例。26 例单耐药、多耐药患者根据药敏结果调整用药方案后,白细胞总数在 1 ~ 4 周内明显降低,细胞数多波动于  $(100 \sim 400) \times 10^6 / L$ ,其中 3 例单耐药、5 例多耐药患者由于治疗不规范、体质差、病情重,进入慢性期后白细胞数在  $200 \times 10^6 / L$  以上持续 3 个月及以上,其中 2 例好转,6 例治疗无效死亡。4 例耐多药、泛耐药患者即使根据药敏结果,调整用药方案以后,白

细胞总数仍在  $300 \times 10^6 / L$  以上直至死亡。

2.3 脑脊液异常细胞检出情况 所有标本都出现过一定比例的嗜中性粒细胞,23 例单耐药、多耐药患者随着病情好转,嗜中性粒细胞减少变成嗜中性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞比例相当的混合细胞反应<sup>[4]</sup>,同时伴有少量浆细胞、嗜酸性粒细胞(图 1A)出现,随后单核细胞、激活的淋巴细胞明显增多(图 1B),当激活单核细胞的比例达到 20% 以上,并可见单核吞噬细胞时(图 1C),患者的脑脊液白细胞总数一般会在 3 ~ 5 d 内急剧下降。3 例单耐药、5 例多耐药患者嗜中性粒细胞曾一度下降,但由于病情恶化,持续呈混合细胞学反应,经变换用药方案和激素减量,其中 1 例单耐药、1 例多耐药脑脊液细胞学突然出现较多的单核细胞和激活单核细胞,后呈淋巴细胞反应而康复,其余 2 例单耐药、2 例多耐药治疗无效,至死亡时一直为混合细胞学反应。2 例耐多药、2 例泛耐药患者,入院前由于用药不规范、体质差,嗜中性粒细胞始终处于较高水平,呈混合细胞学反应(图 1D)直至死亡。

2.4 脑脊液细胞学指导治疗、预后情况 结脑早期应用激素以后,脑脊液细胞学出现以下几种结果可作为激素减量的时机:①当嗜中性粒细胞降到 10% 以下,患者病情明显好转时;②出现 20% 左右的激活单核细胞并可见单核吞噬细胞时;③病情至恢复期,脑脊液白细胞总数明显下降,主要是淋巴细胞时。如耐药结脑患者的脑脊液细胞学长时间呈混合细胞学反应,说明预后不良,随时间进展该类患者多数会死亡。



A. 脑脊液浆细胞和嗜酸性粒细胞; B. 脑脊液激活单核细胞; C. 脑脊液激活单核细胞和单核吞噬细胞; D. 脑脊液混合细胞反应

图 1 脑脊液细胞学变化(瑞吉染色, ×100)

3 讨论

2009 年 WHO 估计全世界每年新发耐多药结核病患者 50 万例,因此耐药结核病对于结核病控制工

作是最严峻的挑战。耐药结脑比普通结脑病死率高得多。大多数耐药结脑患者临床表现不典型,确诊十分困难。虽然对结脑的诊断手段较多,但是或敏感度、特异性不高,或需要较高级的设备,临床普及较困难<sup>[5]</sup>。脑脊液细胞学检查通过细胞分类可以详细评估脑脊液的免疫反应状态。正常脑脊液细胞数为 $(0 \sim 8) \times 10^6/L$ ,只含淋巴细胞和单核细胞。嗜中性粒细胞的出现是感染的标志,浆细胞的出现是由于外界抗原进入脑脊液刺激所致,在慢性炎症中可占一定比例,但在疾病早期不会出现。脑脊液细胞通过细胞染色后,油镜下可观察细胞形态、种类的改变,可以抓住疾病的蛛丝马迹,详细评估病情,故脑脊液细胞学检查具有重要的应用价值<sup>[6]</sup>。

耐药结脑脑脊液外观清亮或呈毛玻璃样,细胞计数多在 $(100 \sim 500) \times 10^6/L$ 。早期以嗜中性粒细胞为主,其比例难与化脓性脑膜炎相鉴别,但是化脓性脑膜炎只要治疗有效,嗜中性粒细胞将在3~5 d内急剧下降,而耐药结脑脑脊液嗜中性粒细胞下降较慢。随着病情发展,嗜中性粒细胞、淋巴细胞、转化型淋巴细胞、单核细胞并存,比例相差不大,这种混合细胞反应一般持续时间较长,短时间内常无明显变化,是耐药结脑脑脊液细胞学的最显著特征,但是体质好,治疗及时有效的患者最早可以在十几天时进入增生期。当激活单核细胞增多,单核吞噬细胞出现时,脑脊液白细胞总数急剧下降,进入以淋巴细胞及单核细胞为主的恢复期。但是耐药严重的结脑患者一旦进入慢性期,则长期呈混合细胞反应。

本研究30例耐药结脑患者刚入院脑脊液白细胞总数和分类均有异常,但是其中18例治疗效果较佳,1个月后嗜中性粒细胞明显下降,逐渐进入以淋巴细胞和单核细胞为主的恢复期,最后达到淋巴细胞和单核细胞比例的正常化<sup>[7]</sup>,其中1例单耐药、1例多耐药患者病情曾好转,嗜中性粒细胞达到10%以下,突然恶化进入呈混合细胞反应的慢性期,后经3个多月的有效治疗病情好转。2例单耐药和4例多耐药患者,由于患者体质差、抗结核药物副作用大,进入慢性期后未见好转直至死亡。另有2例多药、2例泛耐药患者从外院转来病情较重,脑脊液细胞持续呈混合细胞学反应直至死亡。多次脑脊液

细胞分类中,其中性粒细胞比例明显增高长期存在者,提示预后差。脑脊液细胞学检查是耐药结脑病情转归和疗效判断的最佳指标之一,研究发现结脑患者呈持续的混合型细胞反应,提示预后不佳,一旦恢复期脑脊液再度出现大量嗜中性粒细胞,提示病情加重或复发<sup>[8]</sup>。病理学研究发现<sup>[8-9]</sup>早期未经抗结核治疗的脑膜炎为渗出性炎症,炎症变化主要位于颅底,出现大量嗜中性粒细胞,2周后出现增殖性改变<sup>[10]</sup>,表现为激活的单核细胞明显增多。激活的细胞增多提示中枢神经系统受到外界抗原刺激,出现了免疫应答反应。

脑脊液细胞学检查投入小、操作简便,所用时间短,结果确切,有一定特异性,对耐药结脑的诊断、病情监护、指导临床用药和预后评估具有重要价值,值得临床推广应用。

#### 【参考文献】

- [1] CDC. Extrapulmonary tuberculosis cases and percentages by site of disease: reporting areas, 2005 [M]. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention 2005: 116-118.
- [2] Thwaites G E, Chan T T, Stepaniewska K, et al. Diagnosis of adult tuberculous meningitis by use of clinical and laboratory features [J]. Lancet 2002; 360(9342): 1287-1292.
- [3] 崔会鹏, 何俊瑛. 脑脊液检测诊断结核性脑膜炎 [J]. 河北医科大学学报 2006; 27(5): 498-500.
- [4] 粟秀初, 孔繁元. 神经系统临床脑脊液细胞学 [M]. 北京: 人民军医出版社 2002: 18-23.
- [5] 王从平, 曾艳, 詹启洪. 脑脊液置换在重症结核性脑膜炎治疗中的应用 [J]. 中华神经外科疾病研究杂志 2006; 5(2): 153-155.
- [6] Oehmichen M, Domsch D, Wieth-Herz H. Origin proliferation and fate of cerebrospinal cells. A review on cerebrospinal fluid cell kinetics [J]. J Neurol 1982; 227(3): 145-150.
- [7] 何俊瑛, 孔繁元, 郭力. 临床脑脊液细胞学诊断 [M]. 石家庄: 河北科学技术出版社 2007: 110-114.
- [8] Thwaites G, Chau T T, Mai N T, et al. Tuberculous meningitis [J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2000; 68(3): 289-299.
- [9] 马志雄. 结核性脑膜炎的病程与临床表现、预后的关系 [J]. 广西医学 2001; 23(6): 1549-1550.
- [10] 粟秀初, 楼玉珍. 脑脊液细胞玻片离心沉淀仪的改进及其使用价值 [J]. 神经精神疾病杂志 1981; 7(4): 256.